

二、单位推荐意见

推荐单位名称	南方医科大学		法定代表人	黎孟枫	
通讯地址	广州市白云区沙太南路 1023 号-1063 号		邮政编码	510515	
联系人	黄媛	移动电话	13560448679	办公电话	020-61647521
电子邮箱	huangyuan. smu@qq. com				

推荐意见：

弓形虫是一种专性胞内寄生原虫，能感染几乎所有的温血动物，包括人类。可引起人兽共患的弓形虫病，造成重大的疾病负担和经济损失，具有重要的公共卫生学意义。项目集成了近 10 余年的研究成果，具体如下：

1. 分析了我国（乃至全球）人兽弓形虫病流行特征，阐明了中国野生、家养动物弓形虫感染的虫株谱系，为该病的预警和精准防控奠定了基础。
2. 发现弓形虫速/缓殖子相互转化、感染引发宿主细胞信号通路变化、细胞骨架重组和与宿主互作的分子机制，为免疫预防和新药研制提供了理论依据。
3. 创制了弓形虫病诊断与防治技术，筛选了动物-人弓形虫药物靶标，实现该病人兽同防的目标。

成果意义：本项目对我国经济动物和特殊人群弓形虫感染率进行了研究调查或文献数据的荟萃分析，从弓形虫毒力因子的宿主靶标筛选鉴定、弓形虫感染后宿主细胞反应以及弓形虫-宿主互作方面研究了弓形虫的感染致病机制；此外对弓形虫感染潜在的优质诊断靶标、诊断方法进行了探索，对弓形虫疫苗、治疗药物疗效、可能的药物靶标及治疗方案进行研究，获得了创新性的成果。本项目为中国人兽弓形虫病的防控提供了流行病学、致病机制和综合防控技术等方面的重要信息。

我单位认真审核项目填报各项内容，确保材料真实有效，经公示无异议，同意推荐其申报 2020 年中华医学科技奖。

声明：我单位严格按照广东医学科技奖有关规定要求，对推荐书内容及全部附件材料进行了严格审查，确认所提供材料真实、完整、准确、有效。我单位承诺将认真履行作为推荐单位的义务并承担相应的责任，如产生争议，保证积极调查处理。我单位承诺遵守评审工作纪律。

法定代表人签名：

单位（盖章）

年 月 日

三、项目简介

(限 1 页, 限 800-1200 字)

弓形虫是一种专性胞内寄生原虫, 能感染几乎所有的温血动物, 包括人类。可引起人兽共患的弓形虫病, 造成重大的疾病负担和经济损失, 具有重要的公共卫生学意义。本项目集成了近 10 余年来在弓形虫病流行特征、感染致病机制与诊断治疗方面的研究成果, 具体如下:

1. 分析了**中国(乃至全球)人兽弓形虫病流行特征, 阐明了野生、家养动物弓形虫感染的虫株谱系, 为该病的预警和精准防控奠定了基础。**用 ELISA 法检测了癌症患者弓形虫 IgG 与 IgM 阳性率, 分别为 23.8% 与 2.25%, 高于正常人群的 6.08% 与 0.68%, 提示弓形虫感染与某些癌症, 特别是鼻咽癌与直肠癌可能存在相关性。检测孕妇血液 IgG 阳性率达 10.6%。不孕症患者及孕产妇血清抗弓形虫 IgG 抗体阳性率分别为 15.9% 与 5.6%, 有显著性差异。用荟萃分析研究弓形虫型别与人群感染临床症状的关系。发现孕产妇感染弓形虫, 垂直传播的合并率为 20%, 垂直传播的发生率在妊娠的前、中、后期均有所增加; 单用螺旋霉素、螺旋霉素联合 PC (乙胺嘧啶+克林霉素) 或 PS (乙胺嘧啶+磺胺嘧啶)、或其他不典型治疗组的垂直传播率无显著差异。发现艾滋病毒患者中弓形虫感染的总流行率全球为 35.8%, 亚太地区为 25.1%, 比其他地区都更低(非洲 44.9%、拉丁美洲 49.1%、北非和中东 60.7%)。证明免疫功能低下患者感染弓形虫的几率较普通人群高, 强烈建议对这些易感人群采取适当的预防和控制措施。对野生、家养动物进行弓形虫感染率的调查, 证明中国野生、家养动物中的弓形虫基因分型以 *Toxoplasma gondii* 的 *oocyst* 型占主导, 在人兽公共卫生领域均是一个不可忽视的问题。

2. **发现弓形虫速/缓殖子相互转化、感染引发宿主细胞信号通路变化、细胞骨架重组和与宿主互作的分子机制, 为免疫预防和新药研制提供了理论依据。**

发现了弓形虫 DNA 存在低甲基化水平, 对速/缓殖子的相互转化起着调节作用; 阐明了弓形虫入侵时通过调控宿主细胞磷酸化蛋白质谱与细胞骨架, 以及毒力因子与宿主细胞蛋白互作网络, 调节宿主细胞的免疫及凋亡, 实现成功的入侵、增殖、逸出与扩散。

3. **创制了弓形虫病诊断与防治技术, 筛选了动物-人弓形虫药物靶标, 实现该病人兽同防的目标。**采用基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱 (MALDI-TOF-MS) 技术, 建立了一种基于磁珠的血清肽谱分析诊断新方法; 应用 GRA1、GRA7、TSA-ELISA 方法检测动物血清, GRA7-ELISA 显示出最高的敏感性和特异性。表达弓形虫保护性抗原的伪狂犬病疫苗、DNA 疫苗、60% 的小鼠获得抗弓形虫 RH 株的致命攻击的保护力。由于弓形

激酶与哺乳动物激酶在结构和功能上的巨大差异，我们研究证实弓形虫激酶是具有潜在价值的药物靶标。

成果意义：本项目对我国经济动物和特殊人群弓形虫感染率进行了调查研究或文献数据的荟萃分析，从弓形虫毒力因子宿主靶标的筛选鉴定、弓形虫感染后宿主细胞反应以及弓形虫-宿主互作方面研究了弓形虫的感染致病机制；对弓形虫感染潜在的优选诊断靶标、诊断方法进行了探索，对弓形虫疫苗、治疗药物疗效、可能的药物靶标治疗方案进行研究，为中国人兽弓形虫病的防控提供了流行病学、致病机制和综合防控技术等方面的重要信息。

四、主要科学发现、技术发明或科技创新

(限 5 页)

弓形虫是一种专性的细胞内寄生原虫，能感染几乎所有的温血动物，引起人畜共患弓形虫病。全球人口约有 30% 为血清弓形虫抗体阳性，免疫力正常人群通常表现为隐感染，而在免疫力低下的个体如恶性肿瘤、艾滋病、器官移植以及其他长期免疫抑制使用患者，继发感染弓形虫是造成死亡的主要原因之一；孕妇感染可致不良妊娠结局小儿先天性弓形虫病，严重影响优生优育。此外，慢性和隐性弓形虫感染并非“无临床症状”，而与某些精神障碍性疾病密切相关。家畜弓形虫病更是导致畜牧业生产巨大经济损失的原因之一。弓形虫在感染宿主细胞与在细胞内发育的过程中，宿主细胞被调在促进和消除感染之间保持精细的平衡。弓形虫病的传统诊断方法包括病原学、免疫学、影像学、分子生物学等技术，另一方面，针对弓形虫感染尚无特效治疗药物和有疫苗。因此，对弓形虫的流行规律、遗传特征的分析，和对感染的诊断、治疗靶标与疫苗的研究对弓形虫病的监测、预防和控制具有重要意义。

(一) 分析了中国（全球）人兽弓形虫病流行特征，阐明了野生、家养动物弓形虫感染宿主谱系，为该病的预警和精准防控奠定了基础。

本项目用 ELISA 法检测发现癌症患者弓形虫 IgG 与 IgM 阳性率（分别为 23.8% 与 25%）高于正常对照组人群（分别为 6.08% 与 0.68%），显示弓形虫感染与某些癌症，特别是鼻咽癌与直肠癌可能存在相关性；检测孕妇血液 IgG 阳性率 10.6%；对 882 例女不孕症患者和 107 例孕产妇血清进行抗弓形虫 IgG 抗体检测，总阳性率为 14.8%，女不孕症患者及孕产妇血清抗弓形虫 IgG 抗体阳性率分别为 15.9% 和 5.6%，有显著性差

不同型别的弓形虫在小鼠体内的毒力和致病性差异很大，我们用荟萃分析研究弓形虫型别与人群感染临床症状的关系，结果显示 I 型虫株与先天性弓形虫感染、III 型虫株肺弓形虫感染有显著相关性。在我们的亚组分析中，I 型虫株与获得性脑弓形虫病显著相关。这一结果表明，不同型别的弓形虫对人类造成不同的疾病后果。应用荟萃分析现孕产妇感染弓形虫并垂直传播的合并率为 20%，垂直传播的发生率在妊娠的前、中、后期均有所增加。单用螺旋霉素、PSF 或 PS 联合应用螺旋霉素或其他不典型治疗组的混传播率无显著差异，艾滋病毒患者中弓形虫感染的总流行率全球为 35.8%；亚太地区 25.1%，比其他地区都更低：撒哈拉以南非洲的 44.9%、拉丁美洲和加勒比 49.1%、北和中东 60.7%（95%CI 24.1-97.3，OR 值 0.29）。低收入国家（54.7%），高于中等收入国家（34.2%）和高收入国家（26.3%）。全世界 AIDS 病患中约有 13138600 例弓形虫

并感染，撒哈拉以南非洲地区占 87.1%；免疫功能低下患者和正常对照组的弓形虫感染合并患病率分别为 35.9%和 24.7% ($P < 0.001$)，OR 值为 2.24。研究证明免疫功能低下患者感染弓形虫的几率较普通人群高，因此强烈建议对这些易感人群采取适当的预防控制措施。

在全国各地先后开展了弓形虫感染血清流行病学调查，揭示了我国人兽弓形虫感染基本概况和感染因素；从家养和野生动物中分离获得了大批弓形虫虫株，并进行了相关的遗传结构和毒力研究，为深入探讨我国弓形虫的生物学、种群演化和流行病学特征定了重要的基础。从 2010-2017 年，对野生、家养动物进行弓形虫感染率的调查，感率如下：青海省的藏羊（29.8%）及牦牛（35.08%）、西南地区犬（3.5%）、中国东北地区野生水禽（7.2%），吉林省东方田鼠（50.4%），耕牛（12.8%），蝙蝠（5.1-29.3%），猪（9.0%），中国獾（15.45%），东北地区野生鸟类（11.17%），我还报道了一例弓形虫感染致大熊猫感染死亡病例。阐明了 ToxoDB#9 型是中国野生、家养动物中的弓形虫的优势流行株，在人兽公共卫生领域均是一个不可忽视的问题。（代表作 2-Lancet HIV, 7-Parasitol Int. 2015; 8-Parasit Vectors. 2014; 10-Parasit Vectors. 2015; 12-Appl Environ Microbiol. 2013; 13-Plos One 2015; 14-Vector Borne Zoonotic Dis. 2014.）

二）发现弓形虫速/缓殖子相互转化、感染引发宿主细胞信号通路变化、细胞骨架重组和与宿主互作的分子机制，为免疫预防和新药研制提供了理论依据。

DNA 甲基化是一种重要的表观遗传修饰，具有表型可塑性和适应性，DNA 甲基转移酶（DNMT）催化 m^5C 的形成。我们在弓形虫中鉴定了两种可能介导 DNA 甲基化的功能性 DNA 甲基转移酶 *TgDNMTa* 和 *TgDNMTb*，其重组蛋白表现出内在的甲基转移酶活性，两者在缓殖子中的转录水平均高于速殖子。我们对 ME49 株速殖子和缓殖子的 DNA 甲基化进行了亚硫酸盐处理后的全基因组测序分析。结果表明，缓殖子的甲基化位点多于速殖子。DNA 甲基化基因 GO 聚类富集的基因功能与能量代谢和抗宿主免疫等基础细胞过程有关。DNA 甲基转移酶抑制剂 5-氮胞苷（一种能使 DNA 甲基转移酶失活的核苷酸胞嘧啶的化合物）可以抑制纳虫泡（PV）中的速殖子增殖。这些发现首次证实了弓形虫 DNA 甲基化的现象及其潜在的对速缓殖子相互转化的调控。（代表作 5-Int J Biol Sci. 2017）

弓形虫感染导致的宿主细胞反应：弓形虫速殖子入侵、增殖与逸出宿主细胞的过程，宿主细胞被调控以利于弓形虫的感染。一是宿主细胞信号通路被活化/去活化（这个过程通常由关键激酶的磷酸化/去磷酸化调节），我们利用细胞培养氨基酸稳定同位素标记（Stable Isotope Labeling by Amino Acid in Cell Culture, SILAC）技术对弓形虫

染不同时间点，宿主细胞被显著调控的磷酸化蛋白进行生物信息学分析。结果显示弓形虫感染后 2 小时和 6 小时，宿主细胞最主要的反应是细胞周期和细胞骨架重组，这是弓形虫高效入侵和增殖所必需的；其次是宿主细胞的免疫反应。弓形虫调节宿主细胞骨架重组以促进感染。我们发现宿主细胞的 RhoA 及 Rac1GTP 酶在弓形虫速殖子侵染后被纳入了纳虫泡膜 (Parasitophorous Vacuole Membrane, PVM) 上，并高丰度聚集在 PVM 上，然而在疟原虫裂殖子侵染的红细胞内却没有发现这两种 GTP 酶在纳虫泡膜上聚集的现象。我发现，无论弓形虫毒力如何，入侵后宿主细胞中的 RhoA 和 Rac1 GTPase 被激活并在 PVM 聚集，且这种聚集依赖于它们的 GTPase 活性；RhoA 在 PVM 上聚焦的决定结构域包括 P/Mg²⁺结合位点等；RhoA 和 Rac1 活化，是宿主细胞骨架重组促进细胞内病原体侵入的必要条件，它们在 PVM 上的聚集及其正常 GTPase 活性为弓形虫入侵所需。在感染过程中，宿主细胞波形蛋白 Vimentin 在弓形虫纳虫泡周围发生了明显的重排。在感染弓形虫 RH 株和 ROP18 基因敲除株 (RH- $\Delta rop18$) 的宿主细胞中，我们观察到 TgROP18 参与了 Vimentin 蛋白磷酸化动态模式的调节；宿主细胞 Vimentin 被证实与 TgROP18 互作并被磷酸化。我们发现宿主细胞 Vimentin 具有抑制弓形虫入侵的作用，Western Blotting 检测到小鼠脑组织中 Vimentin 表达水平最低，这可能解释了弓形虫神经系统倾向性及性感染时小鼠脑内出现巨大包囊负担的原因。弓形虫感染能激活核苷酸结合区和富含氨基酸重复序列的 NLRP1/3 炎症小体蛋白，介导宿主抗感染免疫。我们发现，I 型虫株裂原活化蛋白激酶 MAPK1 和 MAPK2 的缺失降低了小鼠的急性毒性，感染小鼠的特征性表现是低水平 IL-18、NLRP1/3、ASC 和 caspase-1，以及高水平的 IL-10 和干扰素 IFN- β ；突变体促进了 STAT1 磷酸化，抑制了 STAT3 的磷酸化。这些结果提示弓形虫 MAPKs 与弓形虫感染小鼠的炎症反应有关。(代表作；3-Int J Biol Sci. 2017；4-Am J Trop Med Hyg. 2017；6-Microbes Infect. 2016；19-Parasitol Res. 2016.)

弓形虫-宿主相互作用机制的研究：ROP16、ROP18 是弓形虫最重要的毒力因子，在入侵过程中被分泌至细胞质中，属于 ROP2 家族成员，具有苏氨酸/丝氨酸激酶活性；MIC 蛋白 (MICs) 所形成 MIC1/4/6 复合体、MIC3/8 复合体以及 MIC2/M2AP 复合体，在虫体入侵宿主、PV 形成和毒力作用方面发挥着重要作用，是弓形虫毒力调节因子；然而，这些毒力因子调节宿主细胞发挥其毒力的机制尚不清楚。我们利用双分子荧光互补 (BiFC) 技术在人类细胞中进行高通量蛋白质-蛋白质互作 (PPI) 筛选，以确定 I 型菌株 ROP18 (ROP18I) 和 II 型菌株 ROP18 (ROP18II) 的靶点。在 18000 多个人类蛋白质库中，492 和 141 个蛋白质分别被鉴定为 ROP18I 和 ROP18II 的靶蛋白。生物信息学分析说明这些蛋白质大多与免疫应答和细胞凋亡有关，这表明 TgROP18 在调控宿主免疫和细胞凋亡中

着关键作用，可能有助于宿主的免疫逃逸和成功寄生。我们用 FRET 和 Co-IP 法验证了免疫相关蛋白 NMI、IL20RB、IL21、泛素 C 和 Vimentin 以及凋亡相关蛋白 P2RX1，与 ROP18 互作。弓形虫慢性感染导致的中枢神经系统（central nervous system, CNS）损伤，常伴随精神症状和行为失常，如产生类似阿兹海默症的症状表现。运用 iTRAQ 和 LC-MS/MS 联合的分析，筛选出差异表达最显著的大脑发育调节蛋白-Drebrin，鉴定出 6 个与 Drebrin 蛋白相互作用的弓形虫蛋白，包括热休克蛋白 HSP60、微管蛋白 TUBA1、小 GTP 结合蛋白 Rab2 等，为弓形虫与脑细胞的信息交换和脑细胞损伤机制研究提供了新的参考。（代表作 1-J Proteomics. 2017; 17- Front. Immunol. 2018）

三）创制了弓形虫病诊断与防治技术，筛选了动物-人弓形虫药物靶标，实现该病人同防的目标

新诊断方法的建立：我们采用基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱（MALDI-TOF-MS）技术，建立了一种基于磁珠的血清肽谱分析诊断新方法。用遗传算法建立了弓形虫 RH 株感染 I、II、III 型血清肽谱的诊断模型，并进行了交叉验证。标本 II 模型能正确识别小鼠第 3、6、9 天感染弓形虫 RH 株的血清，敏感度为 91.1%，特异度为 96.7%；同时能检测感染第 3、6、9、12 天的血清标本，敏感度为 91.7%。本研究结果提示，应用 MALDI-TOF-MS 进行血清肽谱分析是诊断急性弓形虫感染的一种新方法。应用 GRA1、GRA7、SA-ELISA 方法检测动物血清，GRA7-ELISA 显示出最高的敏感性和特异性。（代表作 Parasit Vectors. 2015; 15-Vector Borne Zoonotic Dis. 2012）

疫苗研究：弓形虫速殖子的主要免疫显性表面抗原 1（TgSAG1）是弓形虫疫苗候选抗原。我们以伪狂犬病病毒（PRV）疫苗株 Bartha K-61 为基础，获得了表达 TgSAG1 的重构伪狂犬病病毒（rPRV/SAG1），结果表明在 PRV-Bartha K-61 中表达弓形虫保护性抗原研制抗动物弓形虫和伪狂犬病疫苗的新途径。我们发现用 DNA 疫苗 pVAX/TgSAG1 和重构伪狂犬病病毒 rPRV/TgSAG1 的原代增强免疫策略能够保护小鼠免受致命的弓形虫感染。含有弓形虫 SAG1（TgSAG1），或小鼠细胞因子 IL-18 的重组质粒 pcDNA/TgSAG1 和 pVAX/mIL-18 对小鼠抗弓形虫感染的效率显示，pVAX/mIL-18 联合免疫小鼠的存活率（60%）显著高于 pcDNA/TgSAG1 单独免疫小鼠的存活率（40%），证明 IL-18 表达质粒的共转染增强了 TH1 细胞免疫应答的诱导和维持，可能是增强弓形虫疫苗保护效果的有效策略。我们针对 ROP13、ROP16、ROP18、MIC6、perforin-like 蛋白 1，设计了单基因和复合基因疫苗，及犬二型腺病毒重组活载体疫苗（CAV-2-ROP16 和 CAV-2-ROP18），如上疫苗可以不同程度在宿主细胞复制并表达相应蛋白，可有效诱导抗弓形虫感染的体液免疫和细胞免疫应答，显著提高感染小鼠的存活率，降低脑内的弓形虫包囊荷量。

7-2-ROP18 免疫组小鼠机体产生了有效的抗弓形虫感染的体液免疫和细胞免疫反应,显著提高 RH 株感染小鼠的存活率 (40%),降低 PRU 株感染小鼠脑内的包囊数 (57.3%); 明复制型重组腺病毒活载体疫苗 (CAV-2-ROP18) 在急性和慢性弓形虫病预防方面有大潜力。(代表作 9-BMC Infect Dis. 2015; 11-Vaccine. 2013; 14-Clin Vaccine Immunol. 2012; 16- Clin Vaccine Immunol. 2012;18-Infect Genet Evol. 2016.)

弓形虫的治疗药物、靶标及方案研究: 我们采用荟萃分析方法比较这些传统药物治疗中的疗效。从纳入文献中抽取不同组的病例数,计算合并转阴率 (NCR)、治愈 (CR) 或垂直传播率,用 95%可信区间 (CI) 的 NCR 综合评价螺旋霉素、阿奇霉素和药治疗后的总转阴率分别为 83.4%、82.5%和 85.5%,无统计学差异。采用 95%CI 合并愈率 (CR) 评价乙胺嘧啶磺胺嘧啶 (P-S)、甲氧苄啶磺胺甲恶唑 (TMP-SMX) 和乙胺嘧啶林霉素 (P-C) 治疗后,弓形虫性脑炎临床症状完全消失率,分别为 49.8%、59.9%和 6%,无统计学差异。妊娠期原发性弓形虫感染以螺旋霉素为主或与其他药物联合治疗后垂直传播率为 9.9%。艾滋病患者弓形虫性脑炎常用磺胺类药物联合治疗,CR 为 49.4%。我们对弓形虫蛋白激酶功能及其抑制剂作为抗弓形虫药物的可行性进行述分析。蛋白激酶 (PKs) 在弓形虫的增殖、分化和致病中起着重要作用。弓形虫钙依赖性蛋白激酶 1 和 cGMP 依赖性蛋白激酶与弓形虫的细胞侵袭有关;丝裂原活化蛋白激酶 1 和 cAMP 依赖性蛋白激酶参与应激反应和缓殖子的分化;酪蛋白激酶 1 和周期依赖激 CDC2 调控细胞周期。ROP 激酶是弓形虫特异性激酶,参与宿主调控。丝裂原活化蛋白酶 (MAPK) 或细胞外信号调节激酶 (ERK) 途径广泛存在于真核细胞中,介导环境刺引发细胞内增殖、分化等事件的发生。弓形虫具有 p38 α -MAPK 同源物 MAPK1,是小鼠主免疫和毒力的重要调节因子;我们发现 MAPK1 可能参与了弓形虫的增殖和缓殖子分。弓形虫 MAPK1 基因敲除在体外表现出明显的缓殖子分化、宿主细胞附着和增殖的缺在感染小鼠组织中的虫荷较低,且不引起致死性感染,表明 MAPK1 基因与弓形虫在鼠体内的急性毒性有关。为了证实弓形虫的胞内增殖是否与其自身的 MAPK/ERK 成员关,我们用双同源重组方法在 GT1 速殖子中建立 ERK7 敲除的突变体 (Δ TgERK7)。与野生型 GT1 感染组无存活相比,所有感染了 Δ TgERK7 的小鼠在感染 35 天内存活率为 0%。此外, Δ TgERK7 感染小鼠腹腔液中的寄生虫载量较低。体外实验表明 Δ TgERK7 虫的增殖时间显著长于 GT1-WT。因此,我们认为弓形虫的 MAPK/ERK 参与了弓形虫无性活周期的调控,以保证弓形虫的存活和再感染。弓形虫编码两种酪蛋白激酶 1 (CK1) 两种亚型 CK1 α 和 CK1 β ,只有 CK1 α 具有酶活性。我们发现 CK1 β 缺失导致体外弓形虫增殖明显减慢。与 CK1 β 野生株相比,感染 Δ ck1 β 虫株的小鼠可抑制 IL-12 的产生、

现严重的肝损伤、较高的组织虫荷和较短的存活时间。研究证明 CK1 的缺失可能通
增加棒状体蛋白 (ROPs) 的表达、激活 STAT3、抑制 IL-12 的产生而增加小鼠弓形虫
急性毒力, 这对阐明弓形虫毒力因子的调控机制具有重要意义。(代表作
Microbes Infect. 2016; 19-Parasitol Res. 2016.)

在弓形虫用药方面获得一项专利授权(一种抗弓形虫组方药物的筛选, 专利公开号:
510264495.3) 中主要提出了抗弓形虫组方药物的筛选, 并提出了弓形虫防控的用药
案: 治疗方案主体是消炎—抗虫—排毒—修复。**敏感药物:** 磺胺六甲氧嘧啶、乙胺嘧
啶、TMP、复方磺胺甲噁唑、乙酰螺旋霉素。**用药方法:** 针剂以磺胺六甲氧嘧啶、乙胺
嘧啶、复方磺胺甲噁唑和乙酰螺旋霉素几种复方交叉使用为佳, 可有效回避短期耐药性,
多种继发、并发症有极好的抑杀作用。(袁子国, 专利)。

总结: 本项目对我国经济动物和特殊人群弓形虫感染率进行了调查或文献数据的
萃分析, 从弓形虫毒力因子的宿主靶标筛选、弓形虫感染后宿主细胞反应以及弓形虫-
主互作方面研究了弓形虫的感染致病机制; 此外对潜在的优质诊断靶标、诊断方法进
行了探索, 对弓形虫疫苗、治疗药物疗效、可能的药物靶标及治疗方案进行研究, 获得
创新性的成果。本项目为中国人兽弓形虫病的防控提供了重要的流行病信息、致病机
和综合防控技术。

五、客观评价

(限2页)

1. 分析了中国（全球）人兽弓形虫病流行特征，阐明了野生、家养动物弓形虫感染宿主谱系，为该病的预警和精准防控奠定了基础。

在全国各地先后开展了动物与人群弓形虫感染血清流行病学调查，揭示了我国人兽弓形虫感染的基本概况和感染因素；从家养和野生动物中分离获得了大批弓形虫虫株，进行了相关的遗传结构和毒力研究，为深入探讨我国弓形虫的生物学、种群演化和流行病学特征奠定了重要的基础。对癌症患者、孕妇、艾滋病毒患者等特殊人群进行弓形虫感染率的调查，显示弓形虫感染与某些癌症，特别是鼻咽癌与直肠癌可能存在相关性，如急性感染弓形虫垂直传播的发生率在妊娠的前、中、后期均有所增加，艾滋病毒患感染弓形虫的几率较普通人群高。该成果阐明了在弓形虫病防治无特异有效的疫苗和疗药物背景下，对人兽公共卫生的危害巨大，提出了对癌症患者、孕妇、艾滋病毒患等易感人群采取适当的预防和控制措施的重要性。

2. 发现弓形虫速/缓殖子相互转化、宿主细胞反应和与宿主互作的分子机制，为免疫预防和新药研制提供了理论依据。

本成果首次证实了弓形虫 DNA 甲基化的现象及潜在的对速缓殖子相互转化的调控，显示了弓形虫感染宿主细胞最主要的反应是细胞周期和细胞骨架重组以及免疫反应；发现弓形虫调节宿主细胞的 RhoA、Rac1GTP 酶的活化与去活化以及与宿主细胞波形蛋白 vimentin 互作，调节细胞骨架重组以促进感染，Vimentin 具有抑制弓形虫入侵的作用，Western Blotting 检测到小鼠脑组织中 Vimentin 表达水平最低，这可能解释了弓形虫神经系统倾向性及慢性感染时小鼠脑内出现巨大包囊负担的原因。弓形虫感染能激活核酸结合区和富含亮氨酸重复序列的 NLRP1/3 炎症小体蛋白，介导宿主抗感染免疫。通过分析弓形虫毒力因子的互作宿主蛋白功能，发现宿主免疫相关蛋白 NMI、IL20RB、21、泛素 C 和 Vimentin 以及凋亡相关蛋白 P2RX1 等，与 ROP18 互作调节宿主互作调节宿主细胞的免疫及凋亡。弓形虫慢性感染导致的中枢神经系统（central nervous system, CNS）损伤，常伴随精神症状和行为失常，如产生类似阿兹海默症的症状表现，发现弓形虫感染后表达显著升高的大脑发育调节蛋白-Drebrin，发现与其互作的弓形虫蛋白，为弓形虫与脑细胞的信息的交换与脑细胞损伤机制研究提供新的参考。本成果在弓形虫基因组甲基化调控速缓殖子分化、感染后宿主细胞反应及与宿主细胞互作等感染致病的机制方面有创新性的发现。

3. 创制了弓形虫病诊断与防治技术，筛选了动物-人弓形虫药物靶标，实现该病

人兽同防的目标。

用基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱（MALDI-TOF-MS）技术，建立了一种基于磁珠血清肽谱分析诊断新方法。采用 MAT、WB、IFA 和 ELISA 等方法检测牛、水貂、鸡、弓形虫感染率，证明 GRA7 是检测牛、水貂、鸡、猫弓形虫感染的潜在诊断靶标。伪狂犬病毒（PRV）疫苗、DNA 疫苗、复合疫苗方面的研究证明，上述疫苗均可不同程度有效诱导抗弓形虫感染的体液免疫和细胞免疫应答，显著提高感染小鼠的存活率，降低脑内的弓形虫包囊荷量。在弓形虫的治疗药物、靶标及方案研究方面，对螺旋霉素、奇霉素、P-S、TMP-SMX、P-C 和中药治疗弓形虫性脑炎、妊娠期原发性弓形虫感染的治疗效果进行了评价。对弓形虫蛋白激酶功能及其抑制剂作为抗弓形虫药物的可行性进行综述分析，蛋白激酶（PKs）、钙依赖性蛋白激酶 1、cGMP 依赖性蛋白激酶、丝裂原活化蛋白激酶 1、cAMP 依赖性蛋白激酶、酪蛋白激酶 1 和周期依赖激酶 CDC2 等，均是潜在的治疗药物靶标。在弓形虫用药方面获得一项专利授权（一种抗弓形虫组方药物的筛选，专利公开号：201510264495.3）中主要提出了抗弓形虫组方药物的筛选，并提出了弓形虫防控的用药方案，有效回避短期耐药性，对多种继发、并发症有极好的抑杀作用。成果对弓形虫感染诊断新方法、疫苗、治疗靶标研发与治疗方案研究中，均有创新性发现，为弓形虫病的诊、防、治疗、提供了重要的新知识新技术和新理论。

意义：本项目对我国经济动物和特殊人群弓形虫感染率进行了调查或文献数据的荟萃分析，从弓形虫毒力因子的宿主靶标筛选、弓形虫感染后宿主细胞反应以及弓形虫-宿主互作方面研究了弓形虫的感染致病机制；此外对潜在的优质诊断靶标、诊断方法进行了探索，对弓形虫疫苗、治疗药物疗效、可能的药物靶标及治疗方案进行研究，获得创新性的成果。本项目为中国人兽弓形虫病的防控提供了重要的流行病学信息、防控技术和致病机制原理。

七、主要证明目录

7.1 知识产权证明目录（限10个，证明文件上传至附件，附件编号与此表相同）

序号	类别	国别	授权号	授权时间	知识产权具体名称	发明人
1-1	发明专利	中国	ZL200810051107.3	2012-10-17	一种基于piggyBac转座子的弓形虫基因转移载体及构建方法	刘全，商立民，朱兴全
1-2	发明专利	中国	ZL201510264495.3	2018-10-18	一种抗弓形虫组方药物及其筛选方法	袁子国，夏丽君，张秀香，李秀珍；冯伟利，林瑞庆，吕琳

7.4 代表性论文目录（限 20 篇，论文全文上传至附件，附件编号与此表相同）

序号	4-1	影响因子	3.537	SCI 他引 次数	8
论文名称	iTRAQ-based differential proteomic analysis in Mongolian gerbil brains chronically infected with <i>Toxoplasma gondii</i> .				
刊名	J Proteomics.	年,卷(期) 及页码	2017;160:74-83		
通讯作者 (含共同)	袁子国	第一作者 (含共同)	吕琳		
他引总次数	8	通讯作者单位是否含 国外单位	否		

序号	4-2	影响因子	14.753,	SCI 他引 次数	24
论文名称	Prevalence and burden of <i>Toxoplasma gondii</i> infection in HIV-infected people: a systematic review and meta-analysis.				
刊名	Lancet HIV.	年,卷(期) 及页码	2017; 4(4): e177-e188.		
通讯作者 (含共同)	刘全	第一作者 (含共同)	Wang, Z. D.		
他引总次数	26	通讯作者单位是否含 国外单位	否		

序号	4-3	影响因子	4.067	SCI 他引 次数	0
论文名称	Host Cell Vimentin Restrains <i>Toxoplasma gondii</i>				

	Invasion and Phosphorylation of Vimentin is Partially Regulated by Interaction with TgROP18		
刊名	Int J Biol Sci.	年,卷(期) 及页码	2017; 13(9): 1126-1137
通讯作者 (含共同)	彭鸿娟	第一作者 (含共同)	何成
他引总次数	1	通讯作者单位是否含 国外单位	否

序号	4-4	影响因子	2.315	SCI 他引 次数	2
论文名称	Phosphoproteome of Toxoplasma gondii Infected Host Cells Reveals Specific Cellular Processes Predominating in Different Phases of Infection				
刊名	Am J Trop Med Hyg	年,卷(期) 及页码	2017; 97(1): 236-24		
通讯作者 (含共同)	彭鸿娟	第一作者 (含共同)	何成		
他引总次数	3	通讯作者单位是否含 国外单位	否		

序号	4-5	影响因子	4.067	SCI 他引 次数	2
论文名称	Characterization of Cytosine Methylation and the DNA Methyltransferases of Toxoplasma gondii				
刊名	Int J Biol Sci.	年,卷(期) 及页码	2017; 13(4): 458-470		
通讯作者 (含共同)	彭鸿娟	第一作者 (含共同)	魏海霞		
他引总次数	2	通讯作者单位是否含 国外单位	否		

序号	4-6	影响因子	2.669	SCI 他引 次数	4
论文名称	Toxoplasma gondii mitogen-activated protein kinases are associated with inflammasome activation in infected mice				

刊名	Microbes Infect	年,卷(期) 及页码	2016; 18(11): 696-700
通讯作者 (含共同)	刘全	第一作者 (含共同)	Wang, S., Z.
他引总次数	4	通讯作者单位是否含 国外单位	否

序号	4-7	影响因子	2.017	SCI 他引 次数	9
论文名称	Molecular detection and genotypic characterization of <i>Toxoplasma gondii</i> in wild waterfowls in Jilin Province, Northeastern China				
刊名	Parasitol Int	年,卷(期) 及页码	2015; 64(6): 576-578		
通讯作者 (含共同)	刘全&朱兴全	第一作者 (含共同)	Zhang, F. K		
他引总次数	10	通讯作者单位是否含 国外单位	否		

序号	4-8	影响因子	3.031	SCI 他引 次数	64
论文名称	Diagnosis of toxoplasmosis and typing of <i>Toxoplasma gondii</i>				
刊名	Parasit Vectors	年,卷(期) 及页码	2015; 8: 292		
通讯作者 (含共同)	刘全&朱兴全	第一作者 (含共同)	刘全		
他引总次数	69	通讯作者单位是否含 国外单位	否		

序号	4-9	影响因子	2.565	SCI 他引 次数	12
论文名称	Protective efficacy of recombinant canine adenovirus type-2 expressing TgROP18 (CAV-2-ROP18) against acute and chronic				

	Toxoplasma gondii infection in mice.		
刊名	BMC Infect Dis.	年,卷(期) 及页码	2015; 15:114
通讯作者 (含共同)	袁子国	第一作者 (含共同)	Li XZ
他引总次数	13	通讯作者单位是否含 国外单位	否

序号	4-10	影响因子	3.031	SCI 他引 次数	17
论文名称	Molecular detection and genotypic characterization of <i>Toxoplasma gondii</i> infection in bats in four provinces of China				
刊名	Parasit Vectors	年,卷(期) 及页码	2014; 7: 558		
通讯作者 (含共同)	刘全&朱兴全	第一作者 (含共同)	Qin, S. Y.		
他引总次数	19	通讯作者单位是否含 国外单位	否		

序号	4-11	影响因子	3.269	SCI 他引 次数	8
论文名称	Evaluation of protective effect of pVAX-TgMIC13 plasmid against acute and chronic <i>Toxoplasma gondii</i> infection in a murine model				
刊名	Vaccine	年,卷(期) 及页码	2013; 31(31): 3135-9		
通讯作者 (含共同)	袁子国&朱兴全	第一作者 (含共同)	袁子国		
他引总次数	10	通讯作者单位是否含 国外单位	否		

序号	4-12	影响因子	4.077	SCI 他引 次数	10
论文名称	Prevalence and genetic characterization of <i>Toxoplasma gondii</i> in bats in Myanmar				

刊名	Appl Environ Microbiol	年,卷(期) 及页码	2013; 79(11): 3526-3528
通讯作者 (含共同)	刘全&范泉水	第一作者 (含共同)	Sun, H
他引总次数	10	通讯作者单位是否含 国外单位	否

序号	4-13	影响因子	2.776	SCI 他引 次数	25
论文名称	A Systematic Review and Meta-Analysis of the Efficacy of Anti-Toxoplasma gondii Medicines in Humans				
刊名	PLoS One	年,卷(期) 及页码	2015; 10(9): e0138204		
通讯作者 (含共同)	彭鸿娟&David Lindsay	第一作者 (含共同)	魏海霞&李雪兰		
他引总次数	25	通讯作者单位是否含 国外单位	否		

序号	4-14	影响因子	3.233	SCI 他引 次数	14
论文名称	Protective efficacy of a Toxoplasma gondii rhoptry protein 13 plasmid DNA vaccine in mice				
刊名	Clin Vaccine Immunol	年,卷(期) 及页码	2012;19(12):1916-2 0		
通讯作者 (含共同)	袁子国&朱兴全	第一作者 (含共同)	Wang PY		
他引总次数	19	通讯作者单位是否含 国外单位	否		

序号	4-15	影响因子	1.939	SCI 他引 次数	3
论文名称	Detection of murine toxoplasmosis using magnetic bead-based serum peptide profiling by MALDI-TOF MS				

刊名	Vector Borne Zoonotic Dis.	年,卷(期) 及页码	2012.12(6): 462-466
通讯作者 (含共同)	刘全	第一作者 (含共同)	Li, J
他引总次数	3	通讯作者单位是否含 国外单位	否

序号	4-16	影响因子	3.233	SCI 他引 次数	10
论文名称	Vaccination with a DNA vaccine coding for perforin-like protein 1 and MIC6 induces significant protective immunity against <i>Toxoplasma gondii</i>				
刊名	Clin Vaccine Immunol	年,卷(期) 及页码	2012;19(5):684-689		
通讯作者 (含共同)	朱兴全	第一作者 (含共同)	Yan HK		
他引总次数	12	通讯作者单位是否含 国外单位	否		

序号	4-17	影响因子	4.716	SCI 他引 次数	5
论文名称	Bimolecular Fluorescence Complementation- Based Proteomic Analysis of <i>Toxoplasma gondii</i> ROP18' s Human Interactome Shows Its Key Role in Regulation of Cell Immunity and Apoptosis				
刊名	Front. Immunol	年,卷(期) 及页码	2018; 9:61		
通讯作者 (含共同)	彭鸿娟	第一作者 (含共同)	夏菁		
他引总次数	6	通讯作者单位是否含 国外单位	否		

序号	4-18	影响因子	2.611	SCI 他引 次数	6
----	------	------	-------	--------------	---

论文名称	Recombinant canine adenovirus type-2 expressing TgROP16 provides partial protection against acute Toxoplasma gondii infection in mice		
刊名	Infect Genet Evol	年,卷(期) 及页码	2016;45:447-453
通讯作者 (含共同)	袁子国	第一作者 (含共同)	Li XZ
他引总次数	6	通讯作者单位是否含 国外单位	否

序号	4-19	影响因子	2.067	SCI 他引 次数	3
论文名称	TgERK7 is involved in the intracellular proliferation of Toxoplasma gondii				
刊名	Parasitol Res	年,卷(期) 及页码	2016; 115(9): 3419-3424		
通讯作者 (含共同)	朱兴全&刘全	第一作者 (含共同)	Li, Z		
他引总次数	5	通讯作者单位是否含 国外单位		否	

序号	4-20	影响因子	1.939	SCI 他引 次数	9
论文名称	Prevalence and genotype of Toxoplasma gondii infection in cattle from Jilin Province, northeastern China				
刊名	Vector Borne Zoonotic Dis	年,卷(期) 及页码	2014 14(6): 399-402		
通讯作者 (含共同)	刘全	第一作者 (含共同)	Ge, W.		
他引总次数	10	通讯作者单位是否含 国外单位		否	